*Downloaded from UvA-DARE, the institutional repository of the University of Amsterdam (UvA)*
*http://dare.uva.nl/document/70562*

| | |
|---|---|
| File ID | 70562 |
| Filename | SAMENVATTING |

SOURCE (OR PART OF THE FOLLOWING SOURCE):

| | |
|---|---|
| Type | Dissertation |
| Title | Sexual differentiation of the human and rodent forebrain |
| Author | W.C.J. Chung |
| Faculty | Faculty of Medicine |
| Year | 2003 |
| Pages | 160 |
| ISBN | 90644645191 |

FULL BIBLIOGRAPHIC DETAILS:
http://dare.uva.nl/record/141171

*Copyright*

*It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other then for strictly personal, individual use.*

*UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (http://dare.uva.nl)*

# SAMENVATTING

In dit proefschrift werd de rol onderzocht van apoptose bij de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van hersengebieden in het limbische structuren inclusief de hypothalamus van mens, rat en muis. In het bijzonder werden de ontwikkeling van structurele en immunocytochemische geslachtsverschillen in de bed nucleus van de stria terminalis (BST) bestudeerd.

Uit proefdieronderzoek blijkt dat de BST betrokken is bij de regulatie van seksueel gedrag, agressie, verslaving, verzorgingsgedrag en stress. Het volume van de centrale kern van de BST (BSTc) van de mens is groter bij mannen dan bij vrouwen. Dit volumeverschil is omgekeerd bij transseksualiteit, een genderidentiteitsstoornis, waarbij mensen het gevoel hebben in het verkeerde lichaam geboren te zijn. Bij mannelijke transseksuelen, die zich vrouw voelen, is het BSTc volume vergelijkbaar met dat van controle vrouwen. Daarentegen is het volume van de BSTc bij een vrouwelijke transseksueel (de enige tot nu toe onderzochte) vergelijkbaar met die van controle mannen.

De geslachtsafhankelijke ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel in proefdieren wordt door geslachtshormonen veroorzaakt. Deze hormonen zijn waarschijnlijk ook verantwoordelijk voor de seksueel dimorfe ontwikkeling van de BSTc bij de mens. Om te zien op welk moment tijdens de ontwikkeling de BSTc groter is bij mannen dan bij vrouwen werd in *hoofstuk twee* het volume van de BSTc bij de mens, vanaf de foetale ontwikkeling tot in de volwassenheid bepaald met behulp van vasoactief intestinaal polypeptide (VIP) en somatostatine als markers voor dit gebied. Opvallend was dat het BSTc volume pas tijdens volwassenheid seksueel dimorf werd. Het BSTc volume bleek groter te zijn en meer neuronen te bevatten bij mannen dan bij vrouwen. Deze gegevens wijzen er op dat de effecten van geslachtshormonen op de organisatie van de hersenen zich niet beperken tot de vroege ontwikkeling, maar dat de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel ook nog plaats kan vinden tijdens volwassenheid. Waarschijnlijk worden de mechanismen die betrokken zijn bij de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van de BSTc al tijdens de foetale/neonatale perioden of kindertijd/puberteit geprogrammeerd, maar zijn ze als volumetrische veranderingen pas te meten tijdens de volwassenheid.

De geslachtsafhankelijke ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel van vertebraten wordt waarschijnlijk, via de oestrogeen en androgeen receptoren, door man-vrouw verschillen in testosteron spiegels veroorzaakt. Uit recente studies blijkt tevens dat ook progesteron receptoren mogelijk betrokken zijn bij de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van de hersenen. In *hoofdstuk drie* werd onderzocht welke

van deze steroid receptoren, te weten oestrogeen receptor (ER) α, ER β, androgeen receptor (AR) en progesteron receptor (PR), betrokken zouden kunnen zijn bij de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van de BSTc van de mens tijdens de foetale/ neonatale periode, de kindertijd/puberteit en volwassenheid. Er werd meer ER β kernkleuring aan in BSTc cellen bij vrouwen dan bij mannen tijdens de foetale/ neonatale ontwikkeling, terwijl er geen duidelijke geslachtsverschillen waren in ER α, AR en PR gedurende dezelfde ontwikkelingsperiode. Tijdens de kindertijd/ puberteit vonden we bij jongens meer AR immunoreactieve (IR) BSTc cellen dan bij meisjes, terwijl er geen duidelijke geslachtsverschillen in ER α, ER β en PR waren gedurende dezelfde ontwikkelingsperiode. ER α en PR immunoreactiviteit was sterker bij mannen dan bij vrouwen tijdens volwassenheid, terwijl er geen duidelijke geslachtsverschillen in ER β werden waargenomen. De geslachtsverschillen in ER β en AR tijdens de foetale/neonatale ontwikkeling en kindertijd/puberteit ondersteunen de hypothese dat man-vrouw verschillen in geslachtshormonen waarschijnlijk al tijdens de vroege ontwikkeling van de BSTc geslachtsafhankelijke effecten kunnen hebben. Deze geslachtsverschillen in de expressie van steroid receptoren zouden verantwoordelijk kunnen zijn voor het geslachtsverschil in het volume van de BSTc in de volwassen mens.

Er is meer onderzoek nodig om het mechanisme van de werking van geslachtshormonen op hun specifieke steroid receptoren en op de seksuele differentiatie van het menselijk centraal zenuwstelsel te ontrafelen. Een onderzoeksstrategie die toegepast zou kunnen worden is de geslachtshormoonafhankelijke expressie te bestuderen tijdens ontwikkeling van mRNA moleculen in hersengebieden die geslachtsverschillen laten zien bijv. met behulp van microarrays. Ook zou men bij de mens de geslachtshormoonafhankelijke expressie van bekende en onbekende eiwitten kunnen bestuderen met behulp van "proteomics". Dit soort studies kunnen echter alleen verricht worden met behulp van vers ingevroren postmortem humaan hersenweefsel van mannen en vrouwen.

Experimenten in proefdieren zijn noodzakelijk om mechanismen van de geslachtsafhankelijke hersenontwikkeling te onderzoeken. Geslachtshormonen worden verondersteld via steroid receptoren een geslachtsverschil in het aantal apoptotische cellen te veroorzaken. In *hoofdstuk vier* werd daarom het aantal apoptotische cellen na de geboorte in de BST van mannetjes ratten met de BST van vrouwtjes ratten vergeleken. Er waren meer apoptotische cellen in de principale nucleus van de BST (BSTpr) bij vrouwtjes dan bij mannetjes, terwijl het omgekeerde het geval was voor de laterale BST (BSTL). Volumetrisch gezien was de BSTpr groter bij mannetjes dan bij vrouwtjes, hetgeen niet het geval was voor de BSTL, waar geen volumetrisch geslachtsverschil gevonden werd. Onze resultaten bevestigten tevens dat het aantal

apoptotische cellen in de centrale deel van de mediale preoptische nucleus (MPNc) hoger was bij vrouwtjes dan bij mannetjes. Voor zowel de BSTpr en MPNc gold dat het aantal apoptotische cellen lager was bij ratten die waren behandeld met geslachtshormonen dan bij ratten die een placebo behandeling kregen. Deze resultaten bevestigen de hypothese dat geslachtshormonen de seksuele differentiatie van de BST bepalen door middel van apoptose.

Ondanks dat de BSTpr in de rat groter is bij mannentjes dan bij vrouwtjes, is deze kern waarschijnlijk niet homoloog aan de BSTc in de mens, omdat de BSTpr in de rat langs de fornix ligt, terwijl de BSTc van de mens langs de capsula interna ligt. De dorsolaterale BST (BSTLD) in rat en muis is een betere kandidaat voor de homologie met de BSTc van de mens, omdat deze dezelfde anatomische ligging en neuropeptiden productie heeft. Daarom werd in *hoofdstuk vijf* de VIP-IR component van de BSTL en de centro-laterale amygdala (CeL) in *Bax* wildtype (+/+) muizen vergeleken met *Bax* mutant (-/-) muizen. *Bax* is een *Bcl-2* aanverwant gen, dat het apoptose-proces via de activatie van proapoptotische caspasen bevordert. Tevens werd onderzocht of er geslachtsverschillen waren in het volume van de BSTL en CeL in *Bax* muizen. Alhoewel zowel het BSTL als CeL volume groter waren in *Bax* -/- muizen vs *Bax* +/+ muizen, werden er geen geslachtsverschillen in het volume gevonden. Ondanks dat er werd aangetoond dat het "verminderen" van apoptose kan leiden tot een toename in het volume van de BST en amygdala, zijn deze muizen dus niet geschikt voor het bestuderen van geslachtsverschillen zoals gevonden zijn bij mens en rat.

De seksueel dimorfe nucleus van het preoptisch gebied (SDN-POA) in de rat is vele malen groter bij mannetjes dan bij vrouwtjes, en is naast de BSTpr een mooi voorbeeld van hoe testosterone-afhankelijke apoptose een rol kan spelen bij de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van het centraal zenuwstelsel. Zoals eerder beschreven (*hoofdstuk vier*) wordt het aantal apoptotische cellen in de SDN-POA van de rat sterk verminderd door de aanwezigheid van testosteron of oestrogenen. Het is onbekend welke mechanismen geactiveerd worden om SDN-POA cellen te beschermen tegen apoptose. Recente studies geven aan dat PR wellicht een rol speelt bij de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van de SDN-POA, omdat apoptose van endometrium cellen uit de baarmoederwand geremd wordt door progesteron. Dit is een beschermend effect dat met behulp van PR antagonisten: ZK 98,299 en RU 486 opgeheven kan worden. Het aantal PR cellen in de SDN-POA is veel hoger bij mannetjes ratten dan bij vrouwtjes ratten. In *hoofstuk zes* werd de hypothese getoest dat oestrogeen metabolieten afkomstig van testosteron SDN-POA cellen in mannetjes ratten tegen apoptose beschermen via een verhoogde PR expressie tijdens de vroege ontwikkeling. In een eerste studie werd op postnatale dag (PD) 8 het aantal apopto-

tische cellen en de volume van de SDN-POA tussen mannetjes ratten en vrouwtjes ratten vergeleken die dagelijks tot en met PD 7 behandeld werden met placebo, ZK 98,299 of RU 486. In met placebo-behandelde dieren was het aantal apoptotische cellen groter bij vrouwtjes ratten dan bij mannetjes ratten, terwijl het SDN-POA volume groter was bij mannetjes ratten dan bij vrouwtjes ratten. Behandeling met PR antagonisten had geen significant effect op het aantal apoptotische cellen en het SDN-POA volume. *Post hoc* statistiek maakte duidelijk dat er in met PR-antagonisten behandelde dieren geen geslachtsverschil meer aanwezig was in het aantal apoptotische cellen of het SDN-POA volume. De afwezigheid van deze geslachtsverschillen in de met PR-antagonisten behandelde dieren was een onverwacht effect van de postnatale behandeling met ZK 98,299 en RU 486 op de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van de SDN-POA. Een mogelijke verklaring zou gevonden kunnen worden in recente studies waarin aangetoond wordt, dat progesteron-achtige stoffen corticale cellen tegen apoptose beschermen door Akt te fosforyleren. Dit effect kon niet door PR antagonisten zoals RU 486 geïnhibeerd worden. Het is dus onwaarschijnlijk dat de beschermende effecten van progesteron-achtige stoffen tijdens vroege ontwikkeling direct via PR tot stand worden gebracht.

Uit dit proefschrift blijkt dat de geslachtsafhankelijke ontwikkeling van de BSTc in mens, niet beperkt is tot perinatale ontwikkeling maar ook plaats vindt tijdens volwassenheid. Tevens werd aangetoond dat geslachtshormonen tijdens de foetale/neonatale onwikkeling de seksuele differentiatie van het centraal zenuwstelsel bij de mens via steroid hormoon receptoren kunnen bewerkstelligen. Wellicht wordt dit effect net als in de BST van de rat bewerkstelligt door een invloed op het apoptoseproces. Aanvullend onderzoek is nodig om aan te tonen of dit daadwerkelijk het geval is. In een verkennende studie van de BST in de mens hebben wij inderdaad alleen tijdens de perinatale ontwikkeling apoptotische cellen waargenomen, maar omdat apoptose snel verloopt, is het moeilijk om voldoende betrouwbare quantitatieve gegevens te verkrijgen.